

レーザー光を1日30分、1週間照射した。また対照群として右側脛骨に光電変換色素を結合していないPEを埋入した。1週間照射後、屠殺し、10%中性緩衝ホルマリンにて固定後、EDTAにて脱灰、パラフィン包埋後、切片を作成した。骨増生の状態を確認するため、ヘマトキシリン・エオジン(H.E)染色、免疫組織化学染色(ラビットポリクローナル抗オステオポンチン抗体)を行った。

【結果および考察】赤外分光分析にてカルボキシル基の消息を追跡した結果、アゾ基結合後においてカルボキシル基の特性スペクトルの減弱が認められ、硝酸処理後PEのカルボキシル基が消費されたことが確認された。またアゾ基導入後PEにアゾ基を示す特性スペクトルの増強が確認され、光電変換色素の足場が生成されたことが示された。紫外可視分光分析により光電変換色素メンブレンの吸収スペクトルの特性ピークは380nmで確認された。特性曲線は、青から紫色の波長での吸収増強が見られ、PE表面は色素により修飾されたことを示した。照射3日目後の培養細胞で、対照群に比較し細胞増殖が確認された。照射群のH.E染色ではメンブレン下に新生骨の形成があり、免疫化学染色ではオステオポンチンの発現があった。

今回製作した光電変換色素メンブレンは物理化学的性状が安定しており骨組織の増殖方法として十分使用できると考えられた。光電変換色素メンブレンによってレーザー光が電氣的刺激に変換され、メカニカルフォースとして骨組織に感知され、骨増生に影響を与えたと考えられた。

【結 論】光電変換色素メンブレンの歯科における臨床応用への可能性が示唆された。

### 3) ラット脛骨における炭酸ガスレーザー骨誘導初期変化について

○大河内瑠夏, 横瀬 敏志  
(奥羽大・大学院・保存修復)

【研究目的】炭酸ガスレーザーは高出力レーザーに分類され、現在歯科治療においてその多様性は注目を集めている。その生物学的な作用は、レーザー照射時に起こる表面組織の蒸散などのhigh level laser treatment (HLLT) 作用と、照射部

周囲におこる細胞増殖、創傷治癒促進などのlow level laser treatment (LLLT) 作用に分けられ、最近ではレーザー照射などのメカニカルフォースを骨細胞が認識し、骨誘導を促進することも明らかになっている。そこで骨誘導時、骨細胞や骨芽細胞でどのような初期変化が起こっているのか調べるため、ラット脛骨を用いて形態学的ならびに分子生物学的に解析を行ったので報告する。

【材料と方法】8週齢のラット脛骨に観血的な処置を行い、骨表面に直接炭酸ガスレーザー(OPERASER Lite YOSHIDA)を照射した。右側脛骨に歯科用ラウンドバーにて骨欠損をつくり、左側脛骨には出力3.0W、照射距離は約5.0cmでSP1、照射時間900sにて4shot照射した。照射後3, 6hours, 3d, 5d, 10d, 15d, および20d後にエーテルにて屠殺後、それぞれ左右脛骨を摘出し、4℃、10%中性緩衝ホルマリン液で20時間固定後、脱灰液(EDTA method)にて約20日間脱灰し、エタノール脱水処理後、パラフィンに包埋した。解析法として吉木法、DEXA、免疫組織化学染色(Lef-1)、in situ hybridization (Osteopontin, Type1 collagen, Osteocalcin)を行った。さらに骨髄細胞の培養によりALP陽性CFU-F数を調べた。

【結 果】H-E染色では炭酸ガスレーザー照射後、5日目には炭化層を伴った皮質骨の骨髄側に新生骨を認めた。新生骨形成中骨髄側の幼弱な骨芽細胞にはOsteopontinの発現が認められた。また10日目から新生骨が既存の骨に取り込まれる20日目までにはBGPの発現が見られた。さらに培養1日目の骨髄細胞では、レーザー照射群の方がALP陽性CFU-F数が多く見られた。骨細胞に注目してみると、5日目でレーザー照射直下HLLT作用部位の骨細胞には空砲化がみられ、それより少し離れたLLLT作用部位では骨細胞はactiveな状態であった。また骨髄側に形成された新生骨量はLLLT作用部位の方が明らかに多かった。免疫組織学染色では3時間後から6時間後までレーザー照射部位の骨細胞にLef-1が強く発現し、5日目から新生骨形成が起き始めるとLef-1の発現は弱まった。

【考 察】今回の実験で、炭酸ガスレーザー照射

により骨細胞がなんらかの刺激を受けると骨髄中の骨芽細胞が活性化し、新生骨が形成されることがわかった。骨細胞はメカニカルストレスのシグナルを骨表面の細胞へ伝えるためにWnt/ $\beta$ -catenin経路を使用することが明らかになっている。新生骨形成までの間LEF1の発現が見られることから、Wnt/ $\beta$ -catenin経路の活性化が示唆される。よって、レーザーによるメカニカルストレスは通常の機械的負荷と同様、骨細胞に働きかけWnt/ $\beta$ -catenin経路を刺激し、骨形成に関与することが示唆された。

#### 4) 炭酸ガスレーザー凝固モード照射による組織変化

##### —照射条件と組織変化の関係について—

○玉村 清治, 遊佐 淳子, 櫻井 裕子  
(奥羽大・歯・口腔病態解析制御)

【目 的】近年歯科臨床において、低出力パルス発振による炭酸ガスレーザーが口腔粘膜表在性病変の治療に用いられ効果をあげている。この治療法は、切除ではなく組織凝固壊死による病変の除去を目的としている点で従来の炭酸ガスレーザーとは治療概念が異なっているが、その根拠となる科学的データは殆ど示されていない。そこで本研究は、この治療法に関する基本的データの提供を目的とし、照射条件と凝固壊死範囲の関係を検討した。

【方 法】レーザー発振装置としてパナラスC05Σを用いた。パルス幅600 $\mu$ s、休止時間6ms、出力2.5, 5.0, 7.5W、スポットサイズ1.5mm、照射時間10, 20, 30, 40秒の条件でラット背部皮膚上に照射した。1日後に試料を採取し、H-E染色、マッソン・トリクローム染色、およびHsp70免疫染色を施して観察した。

【結 果】2.5W照射群では、組織学的に真皮表面で線維構造の緻密化と好塩基性の増加がみられ、照射時間の増加とともにその範囲を拡大したが、深部では細胞成分、線維構造ともに明らかな変化は認められなかった。一方Hsp70免疫染色では、組織生存の最前線を表す帯状の陽性細胞層がU字形を呈して実際上の壊死範囲を表示し、その深さは平均20秒: 724 $\mu$ m, 30秒: 756 $\mu$ m,

40秒: 796 $\mu$ mであった。5.0W, 7.5W照射群では真皮表面の変性がより著明になり範囲を拡大、蒸散 (5.0W20秒), 実質欠損 (7.5W10秒) を示し、Hsp70表示による壊死層も深さを増した (5.0W10秒: 1063 $\mu$ m, 20秒: 1296 $\mu$ m, 7.5W10秒: 1350 $\mu$ m)。統計的には、同じ出力の場合、照射時間の延長による壊死の深化に有意差はみられず、同じエネルギー密度で出力を上昇させた場合に有意な深化がみられた。

【結 論】炭酸ガスレーザー凝固モードによる組織加工効果、すなわち凝固壊死の範囲は照射時間よりも出力に強く影響されることが明らかになった。

#### 5) 筋組織の外科的侵襲に伴う神経筋接合部および軸索輸送への影響

○宮下 照展, 高田 訓, 大野 敬  
(奥羽大・大学院・顎口腔外科  
奥羽大・歯・口腔外科)

【目 的】口腔外科領域における再建や形成術により筋組織には剥離、減張、伸展などの手技が加わる。これらの侵襲が筋線維に及ぼす影響、あるいは形態や機能の回復にどのように影響するかを検索する目的で、筋の剥離や支配神経切断後の神経筋接合部と運動終末、神経伝達物質の輸送について観察した。

【材料と方法】本研究では顎二腹筋前腹を使用した。実験群として①前復の起始と停止を温存し、筋腹を周囲組織と筋周膜との間隙で完全に剥離し、微少な神経や血管が周囲から剥離された群、以下筋剥離群。②顎二腹筋前腹の支配神経である顎舌骨筋神経を切断し、反転結紮した群、以下神経切断群の2群を検索した。尚、対照群は未処置の顎二腹筋前復を使用した。観察方法は実験後3, 7, 14, 21, 28, 42, 56, 84日例、各5匹を使用し、顎二腹筋前腹を摘出し、8 $\mu$ mの凍結横断連続切片にてAChE染色、ATPase染色を施し、神経筋接合部のAChE活性について前腹中央部を横断面にて観察し、AChE活性の出現数を検索した。また、この標本をもとに筋線維タイプを識別し、タイプ2C線維の出現率を検索した。脳幹を摘出する48時間前に10%WGA-HRP溶液を顎二腹筋前腹起